

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA

DANILO ASSIS DE OLIVEIRA ALVES

AVALIAÇÃO DO PERFIL MICROBIOLÓGICO DE
DESINFETANTES VENDIDOS NO COMÉRCIO INFORMAL DE
ARACAJU E CIDADES CIRCUNVIZINAS.

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2014

DANILO ASSIS DE OLIVEIRA ALVES

AVALIAÇÃO DO PERFIL MICROBIOLÓGICO DE
DESINFETANTES VENDIDOS NO COMÉRCIO INFORMAL DE
ARACAJU E CIDADES CIRCUNVIZINAS.

**Monografia apresentada ao
departamento de farmácia como
requisito para obtenção do grau de
farmacêutico. Área de concentração:
Microbiologia.**

**Orientação: Prof. Dr. Alexandre Luna
Cândido.**

Co-orientação: Prof. Dr. Ricaro Pedro.

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2014

Dedico esta, bem como todas as conquistas que terei a partir de hoje a meus pais por terem tornado possível a realização do sonho de ser graduado. A minha irmã por acreditar em mim e torcer sempre pela minha vitória. A Ricardo Pedro por acreditar no meu sucesso e me aceitar como orientando.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por ter me tornado capaz de desenvolver este trabalho, bem como chegar até o fim da minha graduação. Aos meus pais por todo apoio psicológico e por todo o amor dedicado a nossa família. A minha irmã por ser minha fonte de inspiração pra dar cada passo em minha vida. Ao professor Alexandre Luna por me acolher dentro do seu laboratório, permitindo a realização deste trabalho. A Ricardo por ter estado sempre disposto a tirar todas as minhas dúvidas, se tornando cada vez mais, um exemplo profissional pra mim.

Sumário

1	Introdução	3
2	Justificativa	6
3	Referencial teórico	7
3.1	As BPF e C e a Microbiologia.....	7
3.2	Microrganismos contaminantes de saneantes	7
3.2.1	Bactérias	7
3.2.2	Fungos	8
3.3	Aspectos relacionados ao crescimento microbiano em saneantes	8
3.4	Matérias-primas saneantes e suscetibilidade de contaminação.....	11
3.5	Os problemas de contaminação e a necessidade de preservação.....	14
3.6	O uso de preservantes	16
3.7	Preservantes químicos alternativos ao formaldeído	18
3.8	Boas Práticas de Fabricação e Controle e o uso de preservantes.....	21
4	Objetivos	24
5	Material e métodos.....	25
5.1	Material.....	25
5.2	Reagentes.....	26
5.3	Coleta de amostras	26
5.4	Preparação dos meios de cultura	26
5.5	Distribuição de amostras sobre superfície de meio de cultura sólido	27

5.6	Contagem das colônias	28
6	Resultados e discussão.....	29
7	Considerações finais	33
8	Referências	34

1 Introdução

Para que um produto tenha sucesso no seu lançamento e durante seu ciclo de vida é preciso que seu desenvolvimento seja criteriosamente planejado. Tal planejamento envolve público-alvo, apelos de marketing, comprovação de segurança e eficácia e a garantia de qualidade deste produto durante seu prazo de validade. Não basta, entretanto, somente planejar, é preciso fazer com que o produto atenda todos estes requisitos e ainda, não apenas fazer, mas checar se as ações atingiram os resultados para, finalmente, propor ações de melhoria para garantir o que foi planejado.

As Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPF e C) são um instrumento poderoso para a consecução de tal objetivo, pois além de lidar com os aspectos macros relacionados à produção e comercialização do produto, consideram os aspectos micros, ou seja, as contaminações microbiológicas, como potenciais barreiras ao sucesso. As BPF e C se baseiam no acompanhamento de todo processo de manufatura do produto, desde a entrada da matéria-prima até o produto final em sua embalagem, até sua distribuição e seu uso no mercado pelos consumidores.

Grandes empresas adotam práticas bastante rigorosas para atendimento às BPF e C. Todas as empresas fabricantes de produtos de limpeza têm a obrigatoriedade de atender aos requisitos de BPF e C, que são apresentados na RDC 47/13 de 25 de outubro de 2013.

As contaminações microbiológicas se manifestam de diversas formas, traduzindo-se em prejuízos financeiros, de imagem e à saúde do consumidor. As principais modificações em produtos saneantes incluem: emulsões podem sofrer alterações na aparência, viscosidade, separarem-se em fases e cobrirem-se de uma

camada de colônias de bactérias ou fungos, aparecimento de colorações indesejáveis em diversos produtos, preparados límpidos que dependem da limpidez como apelo de marketing podem tornar-se opalescentes ou turvos, fenômenos de fermentação desenvolvem gases que podem deformar ou quebrar frascos, odor do produto pode ser alterado, não somente o microrganismo proliferado, mas também os metabólitos da ação microbiana podem ser extremamente nocivos à saúde humana.

Saneantes como lava-louças, lava-roupas, amaciantes, ceras, limpadores multiuso, limpadores perfumados, quando contaminados por micróbios não representam grandes problemas para a saúde do consumidor. No entanto, os desinfetantes, quando contaminados, podem perder a sua eficácia contra os microrganismos. Os desinfetantes são produtos usados para desinfecção. A desinfecção é caracterizada como um processo físico ou químico capaz de eliminar grande parte de microrganismos patogênicos presentes em superfícies e objetos inanimados. Pode ser afetada pela concentração da solução germicida, pH do processo e temperatura.

Na classe dos químicos, os “desinfetantes de uso geral” são aqueles utilizados para limpeza domiciliar que segundo a ANVISA tem efeito letal sobre microrganismos não esporulados. No Brasil, incluem-se como matéria prima para produção de desinfetantes, reagentes como cloro, quaternários de amônio, iodo, e outros.

De acordo com informações do Sistema Nacional de Informações Tóxico-Farmacológicas (SINITOX), historicamente, a intoxicação por saneantes é a terceira maior causa de danos à saúde do consumidor, ficando abaixo da intoxicação por medicamentos e animais peçonhentos. O consumidor deve-se a atentar ao uso de produtos clandestinos que são vendidos por caminhões e lojas, pois seus fabricantes não têm instalações e conhecimento de BPF e C, nem de formulação. Estes produtos

não têm ação contra microrganismos e podem causar danos ao consumidor como irritação, queimadura problemas respiratórios e contaminação.

2 Justificativa

Diante do que foi exposto, os desinfetantes clandestinos por serem produtos que não seguem as BPF e C, estão sujeitos à contaminação microbiológica, podendo causar risco à saúde da população que faz uso destes. Portanto, é necessário analisar o perfil de contaminação microbiológica de desinfetantes do comércio informal de Aracaju e cidades circunvizinhas.

3 Referencial teórico

3.1 As BPF e C e a Microbiologia

É impossível falar em BPF e C sem falar de Microbiologia. As BPF e C consideram aspectos macroscópicos, palpáveis e de fácil ilustração, mas que se relacionam aos aspectos microscópicos e daí resulta a sua importância, abordando o controle constante e árduo de seres microscópicos, não visíveis a olho nu, de difícil combate. Estes seres são chamados microrganismos. (PEDRO, 2008).

3.2 Microrganismos contaminantes de saneantes

Microrganismos são seres de tamanhos variados e tão pequenas que requerem auxílio de um microscópio para sua visualização. Entretanto, o agrupamento de várias unidades (células) em um substrato apropriado as torna visíveis. Este agrupamento recebe o nome de colônia. As colônias podem ser contadas a olho nu. Contaminações microbiológicas são causadas por organismos microscópicos, sendo bactérias e fungos os mais comuns. Para que os microrganismos se desenvolvam é necessário que encontrem condições adequadas para sua nutrição, reprodução e mobilidade no meio. De maneira geral, crescem e se desenvolvem mais facilmente na presença de água e nutrientes orgânicos. Na fabricação de saneantes nos interessa o estudo dos seguintes organismos: bactérias, fungos e leveduras. (TORTORA, 2005; PEDRO, 2006).

3.2.1 Bactérias

As bactérias são os seres vivos mais simples do ponto de vista estrutural, e de menor tamanho, podendo ser conhecidas também como micróbios. As bactérias são

microrganismos unicelulares, procariontes e estão presentes no ar, no solo e na água. As bactérias se reproduzem por divisão celular ou fissão binária. Durante este processo ocorre a duplicação do DNA, seguido da divisão da célula bacteriana em duas células filhas. Esta divisão se dá devido à formação de um septo que começa a crescer para o interior da célula a partir da superfície da parede celular. (TORTORA, 2005).

3.2.2 Fungos

Os fungos são organismos eucariontes cujas células possuem um núcleo definido, que contém o material genético da célula. Os organismos do Reino dos Fungos podem ser unicelulares ou multicelulares. As formas unicelulares dos fungos, as leveduras, são microrganismos ovais, maiores que as bactérias. Os fungos mais típicos são os bolores. Eles formam uma massa visível chamada de micélio, composta de longos filamentos (hifas) que se ramificam e se expandem. O crescimento semelhante ao algodão, algumas vezes encontrados sobre o pão e as frutas, são micélios de fungos. Os fungos podem reproduzir-se sexual ou assexuadamente. Eles obtêm seus alimentos absorvendo soluções de matéria orgânica de seu ambiente. Bolores e leveduras são microrganismos multicelulares. Variam de tamanho e morfologia, desde leveduras microscópicas de uma única célula, até os gigantescos cogumelos pluricelulares. Reproduzem-se por fissão, por brotamento ou por meio de esporos (TORTORA, 2005).

3.3 Aspectos relacionados ao crescimento microbiano em saneantes

Os fatores necessários para o crescimento microbiano podem ser divididos em

duas categorias principais: físicos e químicos. Os fatores físicos incluem temperatura, pH e pressão osmótica. Os fatores químicos necessários são água, fontes de carbono e nitrogênio, minerais, oxigênio e fatores orgânicos de crescimento. A maioria dos microrganismos cresce bem nas temperaturas ideais para os seres humanos. No entanto, certas bactérias são capazes de crescer em temperaturas extremas, onde a maioria dos organismos eucarióticos não sobreviveria. São classificados em três grupos primários considerando as variações de temperatura de crescimento: psicrófilos (crescem em baixas temperaturas), mesófilos (crescem em temperaturas moderadas) e termófilos (crescem em altas temperaturas). (PEDRO, 2006).

O tipo de microrganismo mais comumente encontrado são os mesófilos, apresentando a temperatura ótima de crescimento entre 25 e 40 °C. Os organismos que se adaptam para viver no corpo de animais possuem uma temperatura ótima de crescimento próximo a do seu hospedeiro. A temperatura ótima de crescimento de muitas bactérias patogênicas fica em torno de 37 °C. Entre os mesófilos encontramos a maioria dos microrganismos que comumente degradam os alimentos e que são patogênicos. A maioria das bactérias cresce melhor em ambientes dentro de variações pequenas de pH sempre próximo da neutralidade, entre pH 6,5 e 7,5. Os fungos filamentosos e as leveduras podem crescer em variações de pH maiores que as bactérias, sendo, os valores ótimos de pH para fungos geralmente inferiores, entre pH 5 e 6. (PAULUS, 2005).

Os microrganismos retiram da água presente no seu meio ambiente a maioria dos seus nutrientes solúveis. Portanto, eles necessitam de água para o seu crescimento e seu conteúdo celular é composto de aproximadamente 80 a 90% de água. O carbono, junto com a água, é um dos elementos mais importantes para o

crescimento microbiano. Metade do peso seco de uma célula bacteriana típica é composta de carbono. O carbono é essencial para a síntese de todos os compostos orgânicos necessários para a viabilidade celular, sendo considerado o elemento estrutural básico para todos os seres vivos. Em relação às necessidades de oxigênio para o crescimento, os microrganismos são classificados como aeróbios obrigatórios (necessitam de oxigênio para sobrevivência), anaeróbios facultativos (utilizam quando o oxigênio está disponível, mas são capazes de continuar seu crescimento na ausência dele), anaeróbios obrigatórios (não utilizam oxigênio, e a presença dele pode ser danosa), anaeróbios aerotolerantes (toleram a presença do oxigênio, mas não podem utilizá-lo para seu crescimento) e microaeróbicos (são aeróbios necessitando de oxigênio, no entanto, são capazes de crescer somente em concentrações inferiores às encontradas no ar). (PAULUS, 2005).

Assim, as bactérias encontram nos saneantes uma excelente oportunidade de sobrevivência e crescimento, visto muitos deles conterem mais de 90% de água, compostos orgânicos, condições não extremas de pH, entre outras. (PAULUS, 2005).

A dificuldade de se combater os microrganismos é que eles se encontram em todos os lugares da natureza. Agrupar os microrganismos de acordo com seu habitat auxilia a orientação e investigação da causa e controle da contaminação. Eles podem ser encontrados no ar, no solo, na água, nas pessoas, nas matérias-primas e nas embalagens. A água é o habitat de várias espécies microbianas. Originalmente bactérias patogênicas não estariam na água, salvo naquelas que são diretamente contaminadas por fontes humanas. A fonte mais importante de contaminação são as excreções urinárias e fecais, muitas vezes provenientes de condições precárias de saneamento básico e que atingem fontes de água usada na formulação de produtos,

principalmente quando sua produção é clandestina. (PEDRO, 2006).

Finalmente, como as matérias-primas usadas em saneantes são provenientes de diferentes fontes, as contaminações que potencialmente podem carregar são as mais variadas possíveis. Sua suscetibilidade tem sido alvo de muito estudo, derivando a necessidade e prática de que alguns materiais são adquiridos pelo fabricante final já preservados ou são controlados de acordo com o potencial risco de contaminação. (PEDRO, 2008).

Alguns dos principais contaminantes em matérias-primas e produtos saneantes são microrganismos dos gêneros *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, além dos fungos (bolores e leveduras). (PAULUS, 2005).

Em resumo, tais microrganismos provêm de alguma fonte de contaminação, ou seja, do ambiente, do ser humano (manipulador ou operador) dos equipamentos usados para a fabricação dos produtos e podem ter origem nas más condições de limpeza. Assim, as BPF e C podem reduzir o nível de contaminação, mas não na sua totalidade. Não sendo possível a eliminação completa dos microrganismos, procede-se ao seu controle. Entretanto, o controle dos microrganismos não é uma tarefa fácil, pois estes, além de possuírem diferentes estratégias de sobrevivência e reprodução, de uma maneira evolutiva, têm se adaptado às mais extremas condições ambientais, até então não imaginadas.

3.4 Matérias-primas saneantes e suscetibilidade de contaminação

Escolhidas as matérias-primas apropriadas, as contaminações, que podem ser de origem física, química ou microbiológica, são as principais causas de insucesso na obtenção de saneantes de qualidade e eficácia percebidas pelos consumidores. As

contaminações microbiológicas são sem dúvida as mais difíceis de serem evitadas, pois, na maioria das vezes, quando em seu estágio inicial, não podem ser detectadas visualmente, mas sim por métodos de análises específicas, que demandam mais tempo que as análises físico-químicas usuais. São, também, as contaminações mais graves de todas, uma vez que elas põem em risco a saúde humana. (PEDRO, 2008).

Os microrganismos, de maneira geral, exigem condições favoráveis para seu crescimento, o que torna algumas matérias-primas livres de contaminação ou, pelo contrário, muito susceptíveis. Estas últimas podem tornar-se substrato para o crescimento microbiano, uma vez que podem ser utilizadas como fonte de carboidratos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, sais orgânicos, água, entre outros. Além disso, muitos microrganismos requerem íons metálicos como coenzimas, os quais podem estar presentes nos insumos como impurezas. Assim, alguns saneantes são excelentes meios para existência e proliferação de microrganismos, pois são fontes de elementos essenciais ao seu desenvolvimento. Além disso, os saneantes não são agressivos a muitos microrganismos, pelo mesmo motivo que não devem ser agressivos às células humanas dos usuários. Como muitos saneantes são de uso prolongado, especialmente os produtos de tratamento de pisos, móveis, alguns detergentes líquidos, a necessidade de preservação é claramente justificada. (PINTO, BAIRD, 1996)

Muitas bases saneantes são auto-preservantes, já que impossibilitam a proliferação de microrganismos. No entanto, muitos produtos saneantes constituem-se de excelentes meios para o desenvolvimento microbiano, especialmente porque contêm água (substância essencial à vida), substratos orgânicos (fontes de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio) e, não raramente, íons metálicos (potentes catalisadores de reações enzimáticas no metabolismo de bactérias). Assim, para

tornar os saneantes que não são auto-preservantes menos atrativos aos microrganismos, preservantes são requeridos. Quando se tem em mente a formulação de saneantes de excelente qualidade, não se pode deixar de lado, então, a necessidade de utilização de um eficiente sistema preservante. Geralmente os microrganismos crescem em pH neutro ou próximo da neutralidade, havendo efeito inibitório em pH inferior a 4 ou superior a 10. Consequentemente, ácidos e álcalis não apresentam problemas relacionados à contaminação (PINTO, 2000; FERREIRA, 2002; ANVISA, 1988).

Matérias-primas que receberam pequeno ou nenhum tratamento físico ou químico podem apresentar um grau mais elevado de contaminação microbiológica do que matérias-primas que foram submetidas a processos para reduzir a carga microbiana. O preparo de alguns insumos, como as gomas naturais, proteínas e amido, envolve etapas aquosas durante as quais pode haver a proliferação de microrganismos. (ORTH, 1993).

Matérias-primas de origem natural, como gomas, talco, sílica e proteínas apresentam alta suscetibilidade de apresentarem problemas de contaminação. O tipo e a carga de contaminantes presentes e as condições de processamento durante a obtenção destes insumos estão relacionados com o seu grau de contaminação. Por outro lado, matérias-primas sintéticas raramente apresentam contaminação acima dos limites recomendados, devido ao uso de altas temperaturas, solventes orgânicos, extremos de pH ou outras condições desfavoráveis à proliferação microbiana durante o processo de síntese (PINTO, 2000; BAIRD, 1996; FERREIRA, 2002).

3.5 Os problemas de contaminação e a necessidade de preservação

Além das BPF e C, procedimentos que evitam totalmente as contaminações microbiológicas dos saneantes, torna-se necessário recorrer a agentes químicos para a preservação completa e segura destes produtos. Não é função do preservante compensar más práticas de fabricação. Isto pode, inclusive, gerar microrganismos resistentes, porém mesmo que o fabricante possa oferecer um produto isento de contaminações, o próprio consumidor inadvertidamente pode adicionar uma certa carga microbiana durante o seu uso. É claro que determinados produtos possuem menor ou maior risco de contaminação, o que é função de sua formulação (ou seja, do risco de contaminação de seus constituintes), suas condições físico-químicas, embalagens e forma de uso. (PEDRO, 2010).

Historicamente, segundo Pinto *et al* (2000), a ciência de preservação de produtos de consumo é relativamente nova, e somente nos últimos 60 anos tem sido tratada de maneira científica, sobretudo na indústria cosmética. Nos momentos iniciais, a preservação foi obtida com agentes germicidas, apesar das consequências envolvendo riscos. Hoje, grande importância é dada ao assunto, devido à preocupação não apenas do aspecto microbiológico, mas de potencial de irritação e toxicidade ao consumidor. No século XIX, surgiu a chamada cosmética tecnológica, que além da beleza se preocupa com a toxicidade dos produtos. Do século XX em diante, massificou-se a produção e o consumo dos cosméticos. (PINTO, 2000)

Não há muitos trabalhos reportados na literatura que tratem de contaminações microbiológicas em saneantes. No Brasil, pesquisa realizada com saneantes, revelou um alto índice de contaminação em produtos de mercado.

Miyagi *et al* (2000) realizaram um trabalho para avaliar a contaminação microbiológica de desinfetantes de uso domiciliar. Foram adquiridas aleatoriamente

52 amostras de desinfetantes de uso doméstico e 16 (30,77 %) estavam contaminadas, variando de 10^4 a 10^6 UFC/mL.

Bugno *et al* (2003) verificaram a qualidade microbiológica de detergentes e seus congêneres destinados à limpeza, de uso comum ou coletivo. Foram analisadas 57 amostras de produtos de mercado, no período de dezembro de 2001 a abril de 2002, tendo sido observadas evidências de contaminação microbiológica em 42 % dos produtos analisados, sendo que entre estes, 25 % de detergentes para limpeza geral e 4 % detergentes em pó.

Considerando cada categoria, 40 % das amostras de detergentes para limpeza geral apresentaram contaminantes microbiológicos detectáveis. De modo geral, os produtos que evidenciaram crescimento microbiano apresentaram valores de pH entre 5,0 e 9,0. Com relação à presença de fungos, 17 % das amostras contaminadas evidenciaram presença de bolores e leveduras.

Conforme salientado anteriormente, as fontes que podem causar a contaminação de produtos acabados são diversas e podem estar relacionadas à falta de higiene das pessoas envolvidas, falhas na limpeza e sanitização das instalações e equipamentos, sistemas de purificação da água ineficientes, entre outros. No entanto, a investigação de problemas de contaminação observados em produtos finais revela que, frequentemente, o foco está nas matérias-primas utilizadas. A justificativa da preservação se faz pelos motivos citados anteriormente, mas ênfase deve ser dada, então, às matérias-primas, as quais são os principais vetores de contaminação, incluindo obviamente a água. (BAIRD, 1996; BRANNAN, 1997; ORTH, 1993).

3.6 O uso de preservantes

O uso de preservantes químicos em uma formulação aumenta a vida útil dos produtos, garantindo a preservação desde o momento de fabricação até o dia-a-dia na casa do consumidor. Esta é a principal necessidade da utilização de um preservante químico. (PEDRO, 2008).

Preservantes constituem-se em substâncias que, incorporada aos produtos saneantes têm por finalidade evitar a proliferação microbiana nos mesmos, assegurando sua estabilidade e, também, evitar que o uso inadequado destes produtos acarrete doenças nos consumidores (segurança). Um saneante pode ser considerado adulterado quando apresentar contaminação microbiana, ocasionando risco à saúde do consumidor. (PEDRO, 2008).

Na maioria das vezes esses compostos são efetivos contra formas vegetativas de bactérias, agindo sobre a estrutura da célula bacteriana. Os mecanismos mais comuns de ação dos preservantes sobre as bactérias são: a alteração da permeabilidade da membrana citoplasmática, inibição de sistemas enzimáticos essenciais à sobrevivência da célula, destruição da estrutura proteica da parede celular e oxidação de componente celulares. Entretanto, os preservantes podem não agir contra os esporos bacterianos (são formas dormentes, mas geradoras de células vegetativas quando em meio favorável) que podem tornar-se resistentes. Os esporos podem sobreviver a diversas etapas do processamento dos produtos cosméticos e farmacêuticos e contaminar as produções, além de resistir a alguns tratamentos durante a limpeza e sanificação dos equipamentos (tais como produtos químicos em baixas concentrações, temperaturas, irradiação, vácuo, etc.). Nesse caso, há a necessidade de aumentar a eficiência dos sanificantes (e não aumentar o preservante da formulação), aumentando geralmente a concentração de uso, o tempo de contato,

a temperatura e ajuste do pH. (PEDRO, 2008).

No Brasil, o uso de preservantes é regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2007). As substâncias preservantes são definidas como aquelas adicionadas aos cosméticos com a finalidade de preservá-los de danos causados por microrganismos durante a estocagem e, aos consumidores, de contaminações acidentais durante o uso. A legislação saneante também define os ingredientes, as concentrações máximas de uso permitido e, por meio das categorias de produtos, as áreas de aplicação. (ANVISA, 2007).

No mercado são encontrados inúmeros preservantes e cabe ao formulador escolher a melhor opção para seu produto, lembrando sempre que um preservante ideal não existe. Muitas vezes o formulador recorre à associação de dois preservantes para aumentar o espectro de atuação. (PEDRO, 2006).

Um sistema preservante ideal apresentaria as seguintes qualidades, dentro da dosagem de uso recomendada pelo fabricante e do que a legislação permite: possuir amplo espectro de atuação, ser estável em ampla faixa de pH e ser compatível com as matérias-primas comumente usadas em saneantes, não devendo alterar sua cor, odor e textura, inativar os microrganismos com rapidez suficiente para evitar a adaptação microbiana, ser de uso seguro, ou seja, atóxico, não irritante, não sensibilizante e não alergênico, ter custo acessível, entre outros. (PEDRO, 2006).

Dentre as melhores alternativas de custo-benefício adequado para a preservação de produtos saneantes o mercado brasileiro estava o formaldeído, proibido pela ANVISA em 2008.

O formol é considerado cancerígeno pela Organização Mundial de Saúde (OMS), quando absorvido pelo organismo por inalação e, principalmente, pela

exposição prolongada apresenta como risco o aparecimento de câncer na boca, nas narinas, no pulmão, no sangue e na cabeça. Devido ao seu alto potencial toxicológico, principalmente quando utilizado de maneira indevida, o formol teve seu uso proibido em produtos (de consumo ou industriais) no mundo todo. (INCA, 2014).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) advertiu que o formol foi utilizado em concentrações maiores que a permitida, com a função de alisante. Entretanto, este uso não é permitido pela lei, pois pode causar riscos à saúde. A facilidade de acesso ao formal no comércio tem provocado problemas de saúde em diversos usuários, já que este estava sendo adicionado indevidamente em outros produtos com a finalidade de alisamento. O uso de formol é permitido na legislação de cosméticos apenas para conservar produtos (na concentração máxima de 0,1 % para produtos de higiene oral e de 0,2% para demais produtos) e como agente endurecedor de unhas (na concentração máxima de 5%). Em ambos os casos, o formol é adicionado aos produtos durante o processo de fabricação, na indústria, e não depois que o produto já está pronto. Qualquer outro uso fora dessas finalidades e concentrações acarreta sérios riscos à saúde da população. (ANVISA, 2008).

A ANVISA publicou em 05 de junho de 2008, a resolução 35, que formalmente, proibiu o uso do formaldeído em saneantes. (ANVISA, 2008).

3.7 Preservantes químicos alternativos ao formaldeído

O conhecimento das funções químicas presentes nas moléculas dos preservantes auxilia no seu uso otimizado, seja com relação à sinergia ou à redução de incompatibilidades. (PEDRO, 2010).

Os preservantes podem pertencer às funções orgânicas álcoois (álcool etílico e benzílico), aldeídos, doadores de formol e derivados (5-bromo-5-nitro-1,3-dioxano, 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol, diazolidinil e imidazolidinil uréia), formaldeído, glutaraldeído, ácidos carboxílicos e derivados (ácido benzóico, ésteres do ácido hidróxi-benzóico - parabenos), cetonas com funções mistas (metilcloisotiazolinona, metilisotiazolinona e benzoisotiazolinona). (PEDRO, 2010).

O formol se estabelecia como uma importante referência com relação a um adequado espectro de atuação como preservante à contaminação microbiológica e “compensava” a falta de cuidado das empresas com relação às BPC e C. (PEDRO, 2008).

Escolhido um preservante que apresente a maioria das qualidades citadas, deve-se realizar os testes de desafio microbiano (*challenge tests*), que consistem basicamente em avaliar a eficiência do sistema preservante utilizado em determinado produto, por meio de sua contaminação deliberada com carga microbiana de um ou mais tipos de microrganismos (10^6 organismos por grama de produto para bactérias e 10^5 para leveduras e fungos) e verificação do número de microrganismos viáveis ao final de um período de quatro semanas, com avaliação semanal. (PEDRO, 2010).

A incubação é feita com os microrganismos mais comuns na indústria de saneantes, a saber, *Pseudomonas aerunosa* e *Escherichia coli* (bactérias Gram-negativas), *Staphylococcus aureus* (bactéria Gram-positiva), *Candida albicans* (levedura) e *Aspergillus niger* (fungo). (PEDRO, 2008).

A necessidade de usar um produto preservante em uma formulação é fundamental, mas não basta somente isso. Como uma preservação adequada

entende-se o uso de preservantes em níveis adequados e que sejam estáveis e compatíveis com as matérias-primas constituintes do produto, embalagens e condições encontradas no meio, desde o processo de fabricação até a gôndola e, finalmente, obediência às boas práticas de fabricação e legislação pertinente. (PEDRO, 2010).

As BPF e C pressupõem, entre outras coisas, condições ótimas em relação ao projeto de instalação, matérias-primas, água de processo, educação da equipe de trabalho, práticas de estocagem e manuseio, limpeza e sanitização e programas de monitorização microbiológica. As embalagens constituem fator chave de sucesso na preservação, já que idealmente devem evitar a exposição do produto a contaminantes, sobretudo, microbiológicos. (PEDRO, 2010). No caso de produtos clandestinos, as próprias embalagens são vetores de contaminação, pois muitas vezes são oriundas de reaproveitamento, inclusive de lixos.

A seleção do agente antimicrobiano (preservante) a ser incorporado em saneante é tarefa bastante difícil, devendo ser feita, primariamente à luz do conhecimento técnico específico disponível sobre: sua estrutura química para avaliar a compatibilidade com outros componentes da fórmula e sua toxicidade, os fatores que influenciam a concentração efetiva do preservante na fase aquosa do produto: qualidade da água, pH da formulação, dos componentes que contribuem para a atividade do preservante (presença de sequestrantes, glicóis), aspectos legais pertinentes ao preservante ou a suas combinações, sua eficácia e seu custo (custo de tratamento). (PEDRO, 2010). Os produtores clandestinos não dispõem de recursos técnicos, financeiros e conhecimento para elegerem o melhor sistema preservante.

3.8 Boas Práticas de Fabricação e Controle e o uso de preservantes

Os preservantes não podem ser empregados como substitutos das Boas Práticas de Fabricação, embora tais substâncias possam minimizar a proliferação de contaminantes no produto que, inadvertidamente, são introduzidos durante seu processamento. Muito mais que exigir dos preservantes a conservação da fórmula, deve-se usar a BPF e C para prevenir a contaminação. (PEDRO, 2010).

Alguns procedimentos podem destruir os microrganismos, que permanecem no produto, ainda que mortos. A presença de microrganismos, ainda que mortos, é indesejável uma vez que eles ou seus metabólitos podem ocasionar reações adversas no ser humano, principalmente irritação dérmica. Alguns exemplos destas substâncias tóxicas produzidas por microrganismos são as micotoxinas (aflatoxina, toxina botulínica) e os lipossacárides responsáveis pela elevação da temperatura corpórea (pirógenos). Estas substâncias, muitas vezes, apresentam toxicidade em concentrações consideradas muito baixas. Assim, um produto contaminado não deve ser reaproveitado. Exemplos de processos de destruição de microrganismos em produtos contaminados, processos produtivos e procedimentos de limpeza e sanitização são uso de radiação ionizante à base de cobalto, óxido de eteno, hipoclorito de sódio, radiação ultra-violeta, calor, entre outros. (PEDRO, 2010).

Conforme se pode notar, a complexidade dos processos e o nível de conhecimento para a produção de saneantes é alta e, obviamente, não está nas mãos dos produtores informais. Os produtos informais respondem por uma parcela grande dos saneantes comercializados atualmente. (ABIPLA, 2011).

Produtos clandestinos são aqueles produzidos sem os requerimentos de BPF e C, sem o uso de biocidas adequados, em concentrações e condições inadequadas, sem

o uso de água tratada, sem condições de higiene, com matérias-primas de fontes inadequadas, muitas vezes já contaminadas, e que usam embalagens recicladas, na maioria das vezes também já previamente contaminadas. (ABIPLA, 2011).

Um grande problema do setor de produtos de limpeza no Brasil é a existência de um mercado informal que comercializa produtos clandestinos, trazendo problemas à saúde da população, aos fabricantes e ao governo. Estes produtos são vendidos em caminhões e em pequenos comércios. São quase sempre associados à comodidade e a cortes no orçamento. Porém, a economia no bolso pode gerar grandes problemas, pois estes produtos não possuem normas sanitárias, ambientais e controle de qualidade, o que compromete sua eficácia contra bactérias, germes, entre outros. (ABIPLA, 2011). Comumente acidentes acontecem envolvendo crianças e produtos de limpeza clandestinos, devido estes serem comercializados em garrafas de refrigerantes e possuírem cores vivas, o que tornam os produtos chamativos e despertam a atenção das crianças. Além de não apresentarem rótulos com as devidas informações sobre a composição, o que dificulta o atendimento médico. As exposições tóxicas a esses produtos de limpeza clandestinos ou não, são relativamente comuns para mulheres e crianças, visto que, no Brasil, os acidentes tóxicos, especialmente os não intencionais, constituem a principal causa de atendimento de emergência pediátrica.

As mulheres, apesar de estarem cada vez mais no mercado de trabalho, ainda são as que mais têm contato com serviços domésticos, consequentemente uma maior exposição a produtos de limpeza, que podem causar intoxicações e alergias. Segundo Oliveira, Caetano e Gomes (2012) os saneantes clandestinos não passam por nenhum tipo de avaliação quanto à eficácia e possíveis contaminações, portanto o consumidor não tem segurança ao utilizá-lo, pois estes não seguem a adoção da

Legislação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) que são um conjunto de medidas que devem ser adotadas pelas indústrias a fim de garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos produtos com os regulamentos técnicos. (ANVISA, 2013).

4 Objetivos

Este trabalho teve como objetivo primordial avaliar o perfil microbiológico de produtos clandestinos comercializados em Aracaju e cidades da região circunvizinha, realizando-se a contagem das colônias de bactérias e fungos em amostras de desinfetantes. Secundariamente, objetivou-se também comparar os dados obtidos com dados de outros trabalhos semelhantes já publicados.

5 Material e métodos

Os seguintes materiais, reagente e métodos foram adotados neste trabalho:

5.1 Material

- Espátula
- Balança semi- analítica
- Balão de fundo chato
- Proveta
- Papel alumínio
- Gaze
- Tela de amianto
- Autoclave
- Placas de Petri
- Amostras de desinfetantes
- Frascos coletores estéreis
- Micropipeta de 1000 μL
- Alça microbiológica de 0,1 μL
- Bico de Bunsen
- Cabine de segurança
- Estufa incubadora

5.2 Reagentes

- Água destilada
- Tryptic Soy Agar (TSA)
- Sabouraud Dextrose Agar 4 %
- Álcool etílico 70 %

5.3 Coleta de amostras

Foram coletadas amostras de desinfetantes, em frascos coletores estéreis, vendidos no comércio informal em diferentes fabricantes em Aracaju e cidades circunvizinhas. Os frascos foram rotulados de acordo com a amostra e o local de origem. Sendo assim, as amostras variaram a quantidade de 5 a 7 por cada localidade. A letra A representa Aracaju, a letra B, Boquim, a C, Itabaiana, e a D, Nossa Senhora do Socorro.

5.4 Preparação dos meios de cultura

Com auxílio de uma espátula de pesagem, pesou-se 130 g de Sabouraud Dextrose Agar da marca Acumedia, lote 104,619B com validade de Outubro de 2015 e fabricante Neogen Corporation. Transferiu-se para um balão de fundo chato e com uma proveta adicionou-se 2 L de água destilada. Com gaze e papel alumínio, o balão de fundo chato foi tampado. Com tela de amianto e bico de Bunsen, o material foi aquecido sob agitação até dissolver todo o meio de cultura, formando a quantidade necessária para o preparo de 49 placas.

Com auxílio de uma espátula de pesagem, pesou-se 80 g de Tryptic Soy Agar

da marca Acumedia, lote 106569B com validade de Fevereiro de 2018 e fabricante Neogen Corporation. Transferiu-se para um balão de fundo chato e com uma proveta adicionou-se 2 L de água destilada. Com gaze e papel alumínio, o balão de fundo chato foi tampado. Com tela de amianto e bico de Bunsen, o material foi aquecido sob agitação até dissolver todo o meio de cultura, formando a quantidade necessária para o preparo de 49 placas.

Autoclavou-se os balões de fundo chato contendo os dois meios de cultura conforme temperatura e tempo indicados nos rótulos (15 minutos a 120°C).

Cerca de 30 minutos antes do manuseio do material, foi feita a assepsia da bancada da cabine de segurança e das mãos com álcool 70%.

Após esfriar, foram transferidos 20 mL de cada meio de cultura nas placas de Petri esterilizadas por autoclave. Totalizando 50 placas com 20 mL de Tryptic Soy Broth Agar e 49 placas com 20 mL de Sabouraud Dextrose Agar 4 %.

5.5 Distribuição de amostras sobre superfície de meio de cultura sólido

Com o auxílio de uma micropipeta Retirou-se alíquotas de 0,1 mL de cada amostra de desinfetante e espalhou-se com alça microbiológica por toda a extensão das placas em duplicata (duas placas de Tryptic Soy Agar e duas placas de Sabouraud Dextrose Agar para cada amostra).

Para validar o processo foi feito um controle negativo nos cultivos Sabouraud Dextrose Agar e Trypt Soy Agar, nos quais não foi inoculado nenhum microrganismo.

Todas as placas foram incubadas na mesma estufa a uma temperatura de $34 \pm 2^{\circ}\text{C}$. As placas favoráveis ao crescimento de bactérias (TSA) por 48 hrs e as placas

favoráveis ao crescimento de fungo (Sabouraud Dextrose Agar) por 5 dias.

5.6 Contagem das colônias

Foi feita a leitura das placas através da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL) a olho nu, o que indica uma quantidade grande de microrganismos em cada UFC/mL.

6 Resultados e discussão

A seguir são apresentados os principais resultados deste trabalho nas Tabelas 1 e 2.

Quadro 1 – Resultados das contagens de bactérias para as amostras de desinfetantes.

Amostra	Origem	Contagem de bactérias (UFC/mL)
1A	Aracaju	10
2A	Aracaju	20
3A	Aracaju	20
4A	Aracaju	0
5A	Aracaju	0
6A	Aracaju	0
7A	Aracaju	0
1B	Boquim	Incontáveis
2B	Boquim	0
3B	Boquim	Incontáveis
4B	Boquim	Incontáveis
5B	Boquim	Incontáveis
1C	Itabaiana	20
2C	Itabaiana	10
3C	Itabaiana	10
4C	Itabaiana	Incontáveis
5C	Itabaiana	0
6C	Itabaiana	0
1D	Nossa Senhora do Socorro	0
2D	Nossa Senhora do Socorro	20
3D	Nossa Senhora do Socorro	0
4D	Nossa Senhora do Socorro	30
5D	Nossa Senhora do Socorro	20
6D	Nossa Senhora do Socorro	10

Quadro 2 – Resultados das contagens de fungos para as amostras de desinfetantes.

Amostra	Origem	Contagem de fungos (UFC/mL)
1A	Aracaju	0
2A	Aracaju	0
3A	Aracaju	0

4A	Aracaju	Incontáveis
5A	Aracaju	Incontáveis
6A	Aracaju	0
7A	Aracaju	0
1B	Boquim	Incontáveis
2B	Boquim	0
3B	Boquim	Incontáveis
4B	Boquim	Incontáveis
5B	Boquim	Incontáveis
1C	Itabaiana	0
2C	Itabaiana	0
3C	Itabaiana	0
4C	Itabaiana	Incontáveis
5C	Itabaiana	0
6C	Itabaiana	0
1D	Nossa Senhora do Socorro	0
2D	Nossa Senhora do Socorro	0
3D	Nossa Senhora do Socorro	0
4D	Nossa Senhora do Socorro	0
5D	Nossa Senhora do Socorro	0
6D	Nossa Senhora do Socorro	0

Para as bactérias, das 24 amostras analisadas, 10 apresentaram um nível de contaminação contável em UFC/mL (41,6%), 5 amostras apresentaram nível incontável de contaminação (20,8%) e 9 amostras não estavam contaminadas (37,5%). De maneira geral, houve contaminação em 15 amostras (62,5%). Para os fungos, das 24 amostras analisadas, 7 apresentaram nível de contaminação incontável (29,1%) e 17 amostras não apresentaram contaminação (70,8%). Tais resultados são comparáveis aos reportados pela literatura (MIYAGI, 2000; BUGNO, 2003; INMETRO, 2008), embora tais produtos sejam formais. Entretanto, se considerarmos que um desinfetante não pode apresentar contaminação nenhuma e que mesmo uma pequena contaminação já o reprovava para venda, tem-se que 15 amostras do total de 24 estão contaminadas, ou seja, 62,5 % dos produtos estão impróprios para o consumo.

Espera-se que produtos saneantes clandestinos tendam a apresentar alto grau de

contaminação biológica devido ao baixo rigor do controle de qualidade, ou até a ausência do mesmo, por não existir um responsável técnico pelo processo de fabricação e por não seguirem as Boas Práticas de Fabricação e Controle. Além disso, os produtores clandestinos não dispõem de fontes confiáveis de matérias primas e tampouco possuem o conhecimento necessário para definir adequadamente a formulação do produto. Normalmente, os fabricantes clandestinos se utilizam de água não tratada para a fabricação de seus produtos, muitas vezes água de acúmulo de chuva, visando obter um mais baixo custo.

A higienização dos equipamentos, uso de EPIs e condições adequadas de espaço físico para produção de desinfetantes também são de suma importância para garantir a qualidade dos produtos. Geralmente, a produção de desinfetantes de comércio informal é feita em ambientes sem nenhum preparo ou higienização, sendo a sua maioria em garagens de casas ou ambiente completamente abertos, estes são fortemente contamináveis por fungos.

Outra importante fonte de contaminação são as embalagens em que são armazenados tanto os produtos finais quanto as matérias primas. É bastante comum encontrar desinfetantes sendo vendidos em garrafas PET reutilizáveis sem nenhum tipo de esterilização adequada.

Além desses fatores físicos, os desinfetantes apresentam características químicas que os tornam susceptíveis à contaminação microbiológica. Os desinfetantes são substâncias compostas, na maioria das vezes, por 90% de água e compostos orgânicos. Essas condições são excelentes para crescimento e proliferação de microrganismos. Segundo LINDER (2005), as bactérias crescem melhor em pH próximos à neutralidade, variando entre 6,5 e 7,5 e os fungos se proliferam em meio mais ácido com pH entre 5 e 6. Ao realizar a medida de pH dos

produtos clandestinos, verificou-se que aqueles com níveis incontáveis de contaminação apresentaram pH inferior a 3. Normalmente, isso ocorre devido à degradação anaeróbica da amostra que libera ácido sulfídrico e diminui o pH do produto, que é favorecida em frascos fechados. As amostras com nível contável de contaminação microbiológica apresentaram pH por volta de 6,5. Esta faixa de pH neutro indica que as bactérias crescerem em boas condições e como a quantidade de UFC/mL não é muito grande, elas não tornaram as amostras ácidas através da degradação anaeróbica.

As amostras sendo oriundas de diferentes regiões mostraram diferentes graus de contaminação, o que mostra que provavelmente seus produtores disponham de condições de higiene diferenciadas.

7 Considerações finais

Embora a amostragem realizada neste trabalho não tenha sido tão grande, foi possível verificar que o perfil de contaminação de produtos clandestinos é alta, como esperado.

Embora, o presente trabalho tenha se mostrado válido como uma metodologia para realizar a monitorização da qualidade de desinfetantes, ele se mostra útil para avaliar qualquer tipo de produto saneante ou mesmo cosmético.

Os altos níveis de contaminação das amostras são muito coerentes, tendo em vista as diversas fontes possíveis de contaminantes, tais como a falta de rigor na escolha das matérias primas, o uso de água não tratada ou previamente contaminada, concentração inadequada de preservantes, uso de embalagens recicladas, fabricação em ambientes impróprios e possivelmente contaminados, entre outras.

O grupo de trabalho tem a pretensão de ampliar a amostragem para demais regiões do nordeste a fim de comparar os resultados com um trabalho similar que está sendo realizado em São Paulo.

8 Referências

ABIPLA, Anuário Abipla, São Paulo, 2011.

ANVISA, Anvisa proíbe uso de formol na composição dos saneantes, Disponível em http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2008/050608_1.htm. Acesso em 19/08/2014

ANVISA, Formol e glutaraldeído como alisantes. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/alisantes/escova_progressiva.htm. Acesso em 18/08/2014.

ANVISA, Produtos com ação antimicrobiana, Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988

ANVISA, Resolução RDC nº 13, de 28 de fevereiro de 2007 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANVISA, Resolução RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANVISA, Resolução RDC nº 47, de 25 de outubro de 2013 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANVISA, Riscos de alisantes clandestinos à saúde. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/alisantes/index.htm>. Acesso em 19/08/2014

ANVISA, Uso de formol. Disponível em http://www.anvisa.gov.br/cosmeticos/alisantes/formol2/uso_do_formol.htm. Acesso em 19/08/2014

ANVISA, Proibição do uso de formaldeído, RDC nº 35, de 05 de junho de 2014

BAIRD, R.M.; BLOOMFIELD, S.F. Microbial quality assurance in cosmetic, toiletries & non-sterile pharmaceuticals. New York: Taylor & Francis, 1996. 258 p.

BRANNAN, D.K., Cosmetic microbiology: a practical handbook. New York: CRC Press, 1997. 323 p.

BUGNO, A. *et al* - Contaminantes microbiológicos em detergentes e seus congêneres Rev. Inst. Adolfo Lutz, 62(1): 27 - 30, 2003

CROSHAW, B., Preservatives for cosmetics and toiletries, J. Sci. Cosmet. Chem., New York, v. 28, n. 1, p. 3-16, 1977.

CTFA, Cosmetic preservative encyclopedia of antimicrobials, Cosmetics & Toiletries, Oak Park, v. 105, n. 3, p. 49-60, 1990.

CTFA, Interaction between cosmetic ingredients and preservatives, Cosmetics & Toiletries, Oak Park, v. 110, n. 11 , p. 81-86, 1995.

CURRY, J., Water activity and preservation, Cosmetics & Toiletries, Oak Park, v. 100, n. 2 , p. 53-55, 1985.

DENYER, S. P. *et al*, Synergy in preservative combinations, Int. J. Pharm., Amsterdam , v. 25, p. 245-253, 1985.

FERREIRA, A.O., Guia Prático da Farmácia Magistral. 2 Ed. Juiz de Fora, 2002. 845 p.

GUIA ABC. Controle microbiológico na indústria de produtos de higiene pessoal, cosméticos e perfumes. São Paulo: Associação Brasileira de Cosmetologia, 1998.

INCA, Formol ou formaldeído. Disponível em http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=795. Acesso em 18/08/2014.

INMETRO, Programa de análise de produtos – Relatório sobre análise em desinfetantes de uso geral. Disponível em <http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/desinfetante2.pdf>. Acesso em

18/09/2014

MIYAGI, F., TIMENETSKY, J. ALTERTHUM, F., Avaliação da contaminação bacteriana em desinfetantes de uso domiciliar. Revista de Saúde Pública, Voleume 34, número 5, outubro de 2000, p. 444-48

ORTH, D.S. Handbook of cosmetic microbiology. New York: Marcel Dekker, 1993.591 p.

PAULUS, W., Directory of microbicides for the protection of materials: a handbook, Springer, 2005.

PEDRO, R., Preservantes. Freedom Comunicações, São Paulo, 2006. Disponível em www.freedom.inf.br/artigos_tecnicos. Acesso em 18/08/2014.

PEDRO, R., Proibição do uso de formaldeído: como se adaptar a essa nova lei, Household & Autocare 2010, São Paulo, 2010.

PEDRO, R., Saneantes: alternativas de preservação, Household & Autocare 2008, São Paulo, 2008.

PINTO, T.J. *et al*, Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. São Paulo: Atheneu, 2000. 309 p.

Resolução RDC nº 48, de 25 de outubro de 2013 da Agência Nacional de Vigilância ANVISA, Sanitária

TORTORA, G. J. *et al*, Microbiologia, 8ª edição, Editora Artmed, Porto Alegre, 2005.

